



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

Elaboración de material docente siguiendo el modelo del
Aula Invertida.
Determinación de hierro en mejillón por EAA.

Autor/es

JUAN MERCADAL GUILLÉN

Director/es

SUSANA CABREDO PINILLOS y FÉLIX GALLARTA GONZÁLEZ ,

Facultad

Facultad de Ciencia y Tecnología

Titulación

Grado en Química

Departamento

QUÍMICA

Curso académico

2016-17



Elaboración de material docente siguiendo el modelo del Aula Invertida.
Determinación de hierro en mejillón por EAA., de JUAN MERCADAL GUILLÉN
(publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative
Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.
Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los
titulares del copyright.



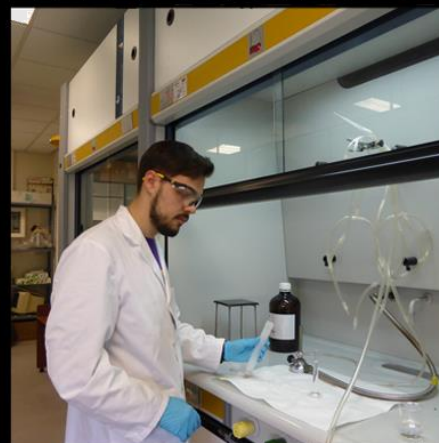
**UNIVERSIDAD
DE LA RIOJA**

Departamento de Química
Facultad de Ciencia y Tecnología

Elaboración de material docente
siguiendo el modelo del
Aula Invertida.
Determinación de hierro
en mejillón por EAA.



The flipped  woorssep®



Trabajo fin de grado
Juan Mercadal Guillén

Tutores:
Susana Cabredo Pinillos
Félix Gallarta González

Índice

1. Resumen/Abstract.....	1
2. Objetivos.....	4
3. Introducción	6
3.1. Determinación de metales en alimentos	7
3.2. Métodos de innovación docente. Modelo Flipped Classroom	10
4. Determinación de hierro en mejillón	12
4.1. Instrumentación y reactivos	13
4.2. Estudios iniciales	14
4.3. Resultados y discusión.....	18
5. Elaboración del guion e informe de prácticas.....	22
6. Elab. de material docente para aplicar el Aula Invertida.....	28
6.1. Materiales.....	29
6.2. Resultados y discusión.....	30
7. Conclusiones	33
8. Bibliografía	35

RESUMEN/ABSTRACT

1. Resumen/Abstract

Resumen

En este trabajo se desarrolló un método de determinación de hierro en mejillón mediante Espectroscopia de Absorción Atómica de Llama (FAAS) empleando distintos tratamientos de la muestra: digestión asistida por microondas y digestión en sistema abierto.

Con este método se diseñó una práctica de laboratorio (4 h) que será impartida en la asignatura de Análisis Instrumental I (3^{er} curso, Grado en Química). Para ello se redactó tanto un guion de la práctica como un informe que tendrán que rellenar los alumnos.

Para aplicar la metodología del Aula Invertida o *Flipped Classroom*, se elaboró un vídeo educativo explicando todos los procesos y actividades que se llevan a cabo en la práctica.

Abstract

In this work, it was developed a method for iron determination in mussel by Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS) using different sample treatments: microwave-assisted digestion and open vessel digestion.

With this method it was designed a laboratory practice (4h) that will be taught at Instrumental Analysis I subject (3rd course, Chemistry Degree). On account of which, it was written a practice script and a report that students must fill.

For applying Flipped Classroom methodology, it was made an instructive video explaining all processes and activities that are carried out at the practice.

OBJETIVOS

2. Objetivos

Este trabajo de fin de grado tiene como principal objetivo la elaboración del material docente necesario para realizar una práctica avanzada de Química Analítica, aplicando el modelo de la *Flipped Classroom*. Para ello se planteó desarrollar un método para la determinación de algún metal en pescados y/o mariscos.

Este objetivo general se puede desglosar en los siguientes:

- Buscar información bibliográfica sobre métodos de determinación de metales en alimentos para poder seleccionar un analito y una matriz.
- Desarrollar un método sencillo de determinación de Fe en mejillón mediante la técnica de espectroscopia de absorción atómica de llama.
- Valorar las distintas opciones de digestión de la muestra: digestión asistida por microondas y digestión en sistema abierto.
- Redactar un guion y un informe de prácticas para ser utilizados posteriormente en la asignatura de Análisis Instrumental I.
- Poner en marcha la metodología del Aula Invertida (*Flipped Classroom*) en unas prácticas de laboratorio.
- Elaborar un vídeo educativo que explique la práctica de laboratorio diseñada.

INTRODUCCIÓN

3. Introducción

3.1. Determinación de metales en alimentos

Se conocen varias técnicas de análisis utilizadas para la determinación de metales en alimentos y la mayoría de ellas están basadas en absorción o en emisión atómica. Las técnicas de absorción atómica (Fig. 3.1, (a)) se basan en la medida de radiación absorbida por parte de los átomos de un elemento en su estado fundamental, mientras que la emisión atómica (Fig. 3.1, (b)) se basa en la medida de la radiación producida por los átomos que han sido excitados con anterioridad. (Skoog, 2008; Hernández, 2002)

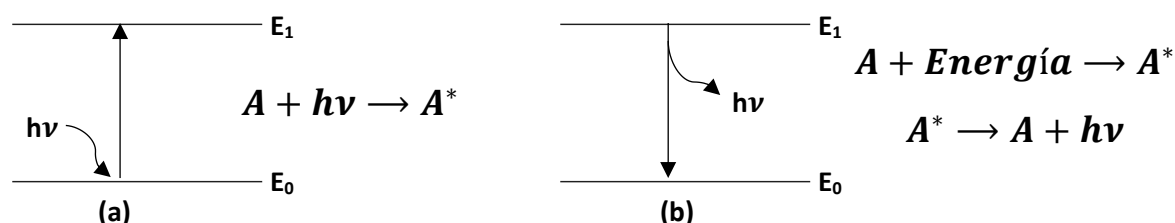


Fig. 3.1. Esquemas de los procesos de absorción (a) y emisión (b) atómica

En el ámbito alimentario las técnicas más utilizadas son:

a. Espectroscopia de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). Técnica de emisión atómica en la que los átomos son excitados a altas temperaturas en un plasma de argón. Este plasma se origina haciendo fluir el argón por tres tubos concéntricos de cuarzo rodeados por una bobina de inducción. (Silva T.S. et al., 2017)

b. Espectroscopia de absorción atómica de horno de grafito (GFAAS). Técnica de absorción atómica en la que el método de atomización es un horno de grafito en forma de tubo. Este tubo está abierto por los dos extremos por donde pasa el haz de luz. El horno de grafito se conecta a dos electrodos y se calienta aplicando una diferencia de potencial. Controlando la temperatura se elimina el disolvente, se mineraliza la muestra y finalmente se atomiza para poder medir la radiación absorbida. (Makednski L. et al., 2017)

c. Espectroscopia de absorción atómica de vapor frío (CVAAS). Se trata de una técnica de absorción atómica específica para la determinación de mercurio al ser el único elemento capaz de atomizarse a temperatura ambiente. (Kristian K.E. et al., 2014)

d. Espectroscopia de absorción atómica de llama (FAAS). Es la técnica utilizada en este trabajo. Es una técnica de absorción atómica cuya atomización se produce mediante una llama. (Fakayode S.O. et al., 2012).

La instrumentación utilizada consta de 5 partes fundamentales siguiendo el modelo de la figura 3.2:

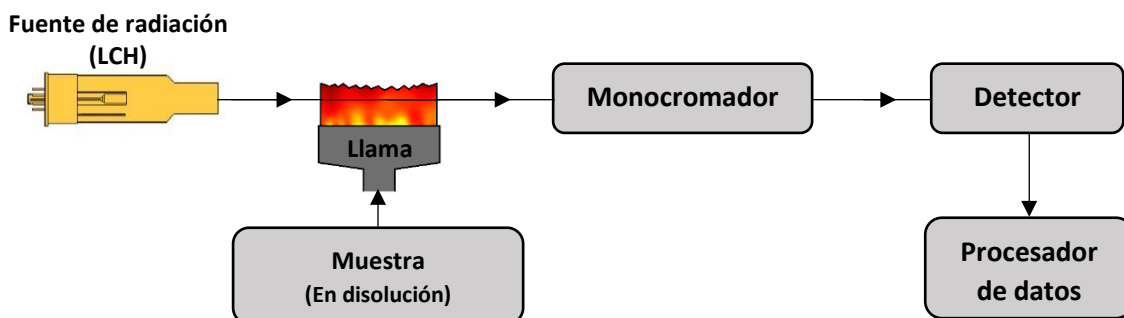


Fig. 3.2. Esquema de un espectrofotómetro de absorción atómica de llama

Normalmente se utiliza un mechero de flujo laminar (fig. 3.3) para conseguir que los átomos del analito lleguen a transformarse en vapor atómico. El proceso de atomización por llama presenta cuatro etapas fundamentales:

Nebulización. Conversión de la disolución en partículas muy finas que queden en suspensión.

Desolvatación. Eliminación del disolvente empleado mediante evaporación.

Volatilización. Transformación de las partículas de compuesto sólidas en vapor molecular.

Disociación. Conversión de moléculas gaseosas de sal en átomos en estado gaseoso.

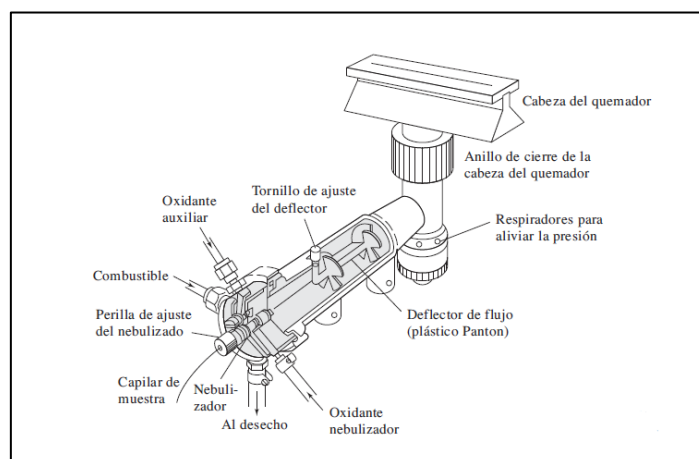


Fig. 3.3. Partes de un mechero de flujo laminar.
(Skoog, 2008)

En el proceso de atomización se pueden producir procesos no deseables como son la formación de vapor iónico o vapor molecular, ya que disminuyen la población de átomos en la llama. Estos procesos se pueden minimizar controlando la temperatura de la llama. En función del elemento a analizar se utilizan diferentes llamas que aportan diferentes temperaturas de atomización la más utilizada es la de aire-acetileno.

Métodos de digestión de las muestras

Existen numerosos tipos de tratamientos para poner una muestra sólida en disolución ya sea por vía seca o por vía húmeda.

Los métodos por vía seca se clasifican en dos grupos fundamentales:

- a. Sistemas abiertos:** entre estos destacan la reducción a cenizas tanto en mufla (alta T^a) y la como por plasma de oxígeno (baja T^a).
- b. Sistemas cerrados:** cabe destacar la combustión en matraz o método Schöniger y la combustión en bomba de oxígeno.

Los métodos de digestión por vía húmeda son los más utilizados para la digestión de las muestras alimentarias. Dentro de la digestión ácida se pueden clasificar en dos grupos principales:

- a. Sistemas abiertos:** se trata del método tradicional de digestión por calentamiento en un recipiente abierto (Erlenmeyer o similares) a presión atmosférica. En estos métodos se digieren las muestras aplicando ultrasonidos o calentándolas en una fuente de calor (mechero, placa calefactora, etc.) junto con el ácido para obtener una disolución apta para el análisis. Otro sistema abierto de digestión muy utilizado es el método *Kjeldahl*.
- b. Sistemas cerrados:** en estos métodos se trabaja en recipiente cerrado a altas presiones y temperaturas, disminuyendo el tiempo de digestión y evitando la contaminación de la muestra y la volatilización de analito. El método más utilizado es la digestión asistida por microondas en la que la muestra es digerida en un tubo de teflón cerrado y calentado en un horno de microondas. Existen otros sistemas cerrados como las bombas a presión o los incineradores de alta presión.

Para la digestión ácida de muestras orgánicas se utilizan diferentes disolventes o mezcla de estos. En la tabla 3.1 se muestran ejemplos de las diferentes condiciones de digestión:

Tabla 3.1. Condiciones de digestión obtenidas de la búsqueda bibliográfica

Disolvente	Técnica	Tiempo	Referencia
HNO₃ 65% (m/m)	Digestión en sistema abierto	15 min	K.E. Kristian et al., 2014
HNO₃ 6 M	Digestión en sistema abierto	3 h	S.O. Fakayode et al., 2011
HNO₃ 65% (m/m) + HCl 37% (m/m)	Digestión asistida por microondas	30 min	P. Olmedo et al., 2013
HNO₃ 65% (m/m)	Digestión asistida por microondas	30 min	L. Makedonski et al., 2017

Se probaron dos métodos de digestión ácida con el fin de comparar la eficacia de los sistemas abiertos frente a los sistemas cerrados.

3.2. Métodos de innovación docente. Modelo *Flipped Classroom*

Actualmente han surgido numerosas metodologías educativas que intentan renovar el modelo docente tradicional. El objetivo de muchas de estas técnicas es la introducción de las nuevas tecnologías en las aulas, para así optimizar y personalizar el aprendizaje. Normalmente, estos métodos de innovación son compatibles con otras metodologías educativas bien contrastadas.

En el ámbito de la química, se pueden aplicar diversos modelos para mejorar la docencia, tanto en el aula como en el laboratorio. Algunos de estos métodos docentes son:

Aprendizaje móvil o *m-learning*. Esta metodología se basa en el uso de dispositivos móviles como ordenadores portátiles, smartphones o tabletas. Esta tiene como objetivo poder aprender en cualquier lugar utilizando la tecnología móvil como plataforma de aprendizaje. (Amo, 2017)

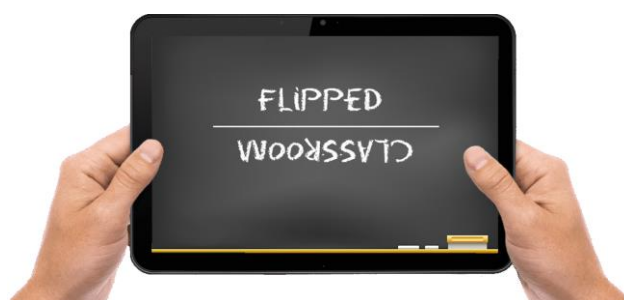
Gamificación. Del inglés *Gamification*, es una metodología basada en la utilización de juegos en el ámbito educativo. Con esto se pretende motivar a los alumnos a través de juegos y videojuegos. (Amo, 2017)

Aprendizaje basado en problemas (PBL). Se basa en la resolución de un problema por un grupo de alumnos de manera autónoma con el fin de desarrollar el pensamiento crítico. (García, 2015)

Clase invertida o *Flipped Classroom*. Se trata de una metodología pedagógica creada por los profesores de química Jonathan Bergmann y Aaron Sams. Este modelo consiste en trasladar la instrucción y adquisición de conocimientos fuera del aula y utilizar el tiempo de clase para la realización de actividades y ejercicios prácticos y resolución de dudas. (Bergmann, 2014)

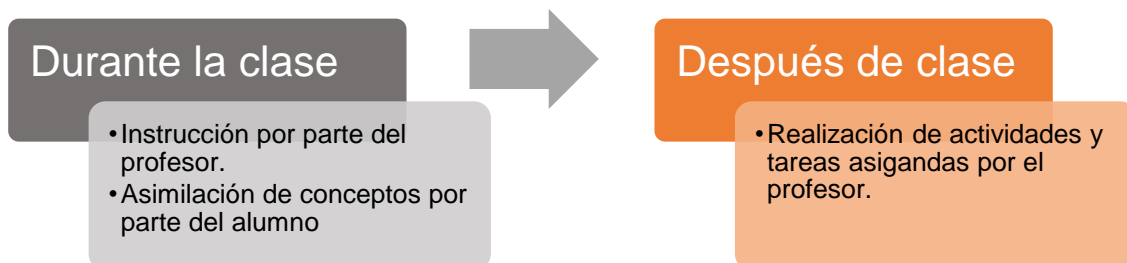
Para conseguir esto se utilizan vídeos educativos y otras plataformas para la instrucción, aplicando las nuevas tecnologías. Está demostrado que esto consigue que los estudiantes se interesen más por la asignatura al utilizar nuevas tecnologías y mejora la interacción de los

alumnos con el profesor ya que en el tiempo de clase se deja más tiempo para que el profesor pueda hablar con cada alumno individualmente personalizando así el aprendizaje.



El concepto de la clase invertida da completamente la vuelta al funcionamiento de una clase tradicional, tal y como se muestra en el esquema de la figura 3.4.

Modelo tradicional



Flipped Classroom

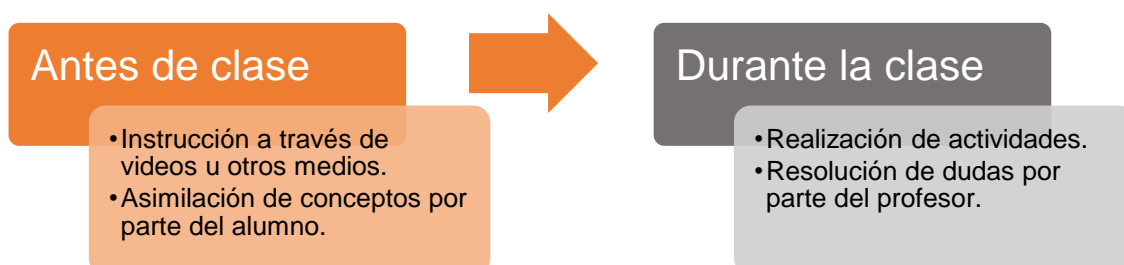


Fig. 3.4. Esquema comparativo entre método tradicional y el Aula Invertida

Al dar la vuelta a la clase se favorece la personalización de la educación ya que ésta se puede diseñar de acuerdo con las necesidades de cada alumno. Además de esto, este nuevo método presenta diferentes ventajas:

- Ayuda tanto a los alumnos muy ocupados como a los que tienen problemas con el aprendizaje.
- Permite que cada alumno aprenda a su ritmo al poder poner en pausa y rebobinar los videos.
- Mejora la relación profesor/alumno al aumentar la interacción en el tiempo de clase.
- Involucra a las familias en el aprendizaje a niveles de educación primaria.

Con todo lo comentado anteriormente, se puede concluir que este método aporta numerosas ventajas para poder aplicarlo a unas prácticas de laboratorio de Química Analítica como se podrá ver a lo largo de este trabajo.

DETERMINACIÓN DE HIERRO EN MEJILLÓN

4. Determinación de hierro en mejillón

6.1. Instrumentación y reactivos

Como disolvente para el proceso de digestión se utilizó ácido nítrico al 65% (*m/m*) PA. Para preparar las disoluciones patrón de hierro se utilizó FeCl_3 además de otros patrones para los estudios previos como CaCO_3 , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y CuSO_4 .

Para la digestión asistida por microondas se utilizó un horno de microondas CEM MARS X-press (fig. 4.1). Este aparato utiliza las microondas para calentar la muestra que se introduce en unos tubos de teflón cerrados junto con el ácido nítrico, produciendo una digestión muy eficiente en poco tiempo.

Este horno de microondas se puede programar a tres potencias diferentes 300, 600 y 1200 W, en función de las necesidades de la digestión. La temperatura se controla a través de unos sensores de infrarrojos y existe un sistema de ventilación para evitar la acumulación de gases.

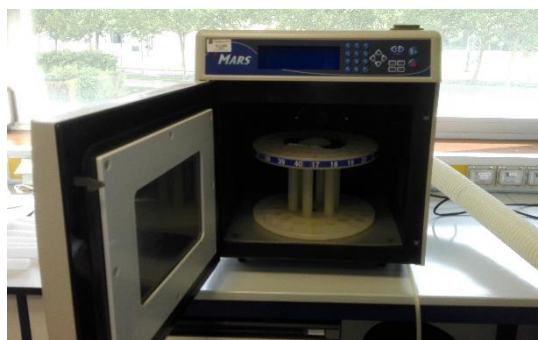


Fig. 4.1. Horno de microondas MARS X-press

Para la digestión abierta se emplearon placas calefactora y matraces Erlenmeyer para evitar posibles pérdidas de analito.

Finalmente, para realizar la medida instrumental se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica de llama UNICAM 919AA (fig. 4.2). Como fuente de radiación utiliza lámparas de cátodo hueco intercambiables para cada elemento. La fuente de atomización que emplea es un mechero de flujo laminar con una llama de aire-acetileno.



Fig. 4.2. Espectrofotómetro UNICAM 919AA

6.2. Estudios iniciales

Para desarrollar el método de determinación de metales en alimentos se realizaron una serie de estudios iniciales con el fin de seleccionar el analito y la matriz a analizar.

En primer lugar, se optimizó el programa de digestión asistida por microondas en base a la información proporcionada por el Laboratorio Regional de la Comunidad Autónoma de La Rioja (La Grajera). Como disolvente para la digestión se empleó 10 mL de ácido nítrico al 65 % (*m/m*). Se probaron los programas de digestión presentados en la tabla 4.1 para diferentes muestras de pescado y marisco: bacalao, sardina, atún, salmón y mejillón. Antes de la digestión se lava la muestra con agua destilada y se seca posteriormente con papel absorbente.

Tabla 4.1. Programas de digestión asistida por microondas empleados

Potencia (W)	Rampa (min)	Temperatura (°C)	Mantener (min)	Enfriado (min)
300	4:00	200	2:00	30:00
600	8:00	200	8:00	30:00
600	15:00	200	8:00	30:00

El primer programa de digestión se descartó al no llegar a la temperatura programada y no conseguir una digestión total del pescado ya que se obtuvieron disoluciones turbias. El segundo programa se descartó a pesar de que conseguían disoluciones transparentes, no se alcanzaban todavía los 200 °C. A la vista de estos resultados se optó por utilizar el último programa de digestión durante el resto de pruebas.

Las condiciones de digestión en sistema abierto se tomaron directamente de la bibliografía (K. E. Kristian et al., 2014). En un Erlenmeyer de 250 mL se añade la muestra junto con el disolvente en las condiciones indicadas en la tabla 4.2.

Tabla 4.2. Condiciones de digestión abierta

Disolvente	Volumen (mL)	Tiempo (min)	Fuente de calor
HNO ₃ 65% (<i>m/m</i>)	10	15:00	placa calefactora

A continuación se hizo un estudio para determinar cuál sería el mejor metal para analizar. Se realizaron determinaciones de Cu, Mg, Ca y Fe, ya que eran las lámparas de cátodo hueco disponibles en el laboratorio. Para ello se realizaron 8 digestiones de la misma muestra de pescado y se determinó el contenido de cada uno de los metales. La tabla 4.3 se muestra las concentraciones ($c \pm 2s$) de cobre, calcio y hierro para distintas muestras de pescado.

Tabla 4.3. Resultados de las pruebas con los diferentes metales

Pescado	Concentración metal (mg/kg)		
	Cu	Ca	Fe
<i>Atún en lata</i>	$1,6 \pm 0,4$	68 ± 8	$13,0 \pm 1,1$
<i>Sardina en lata</i>	$2,3 \pm 0,4$	$1,0 \cdot 10^3 \pm 0,4 \cdot 10^3$	24 ± 5
<i>Bonito en lata</i>	$3,6 \pm 0,7$	$1,2 \cdot 10^2 \pm 0,7 \cdot 10^2$	$12,2 \pm 1,3$

A la vista de los resultados se descartó el cobre ya que daba señales analíticas muy bajas para todos los pescados ($A \approx 0,025$) y por lo tanto se necesitaría mucha cantidad de muestra. El calcio también se descartó ya que no daba resultados reproducibles para una misma muestra tal y como se muestra en la tabla 4.3.

A continuación, se hicieron algunas pruebas más para el hierro y el magnesio, para decidir cuál de los dos metales da mejores resultados. La tabla 4.4 recoge los resultados obtenidos de estas pruebas.

Tabla 4.4. Resultados de las pruebas para Mg y Fe

Pescado	Concentración metal (mg/kg)	
	Mg	Fe
<i>Salmon</i>	$3,4 \cdot 10^2 \pm 1,4 \cdot 10^2$	$1,03 \pm 0,04$
<i>Bacalao</i>	$2,9 \cdot 10^2 \pm 0,3 \cdot 10^2$	$1,21 \pm 0,14$

Se descartó el magnesio ya que requería diluciones muy grandes de la muestra para poder ser medida en el espectrofotómetro y dificultaba la determinación de varios elementos con una misma muestra y, como se verá más adelante, la señal analítica del Mg varía en función de la concentración de nítrico por lo que los resultados podrían variar según la evaporación de este ácido durante la digestión.

Paralelamente a lo anterior, se evaluó la influencia que podía tener la cantidad de ácido nítrico de las disoluciones en la medida de la señal analítica. Para ello se prepararon para cada elemento (Mg, Ca y Fe), tres disoluciones patrón de la misma concentración en matraces de 50 mL. Cada disolución lleva una cantidad distinta de HNO_3 65% (m/m) con el fin de comparar las señales analíticas de las tres disoluciones. A continuación se realizaron 24 medidas de cada disolución obteniendo los resultados recogidos en la tabla 4.5.

Con estos datos se realizaron los correspondientes estudios ANOVA con un intervalo de confianza al 95% para ver si existen (H_1) o no (H_0) diferencias entre las medidas a distintos volúmenes de HNO_3 . Si el nivel de significación es menor o igual a 0,05 se rechaza la hipótesis nula, si éste es mayor se acepta la hipótesis nula (H_0) y se considera que no hay diferencias y por tanto el volumen de HNO_3 no influye.

Tabla 4.5. Absorbancias de muestras de Mg, Ca y Fe a distinto volumen de HNO₃

Mg (0,48 mg/L)			Ca (20,34 mg/L)			Fe (5,46 mg/L)		
0 mL	2 mL	10 mL	0 mL	2 mL	10 mL	0 mL	2 mL	10 mL
0,447	0,439	0,476	0,454	0,382	0,444	0,357	0,358	0,344
0,453	0,438	0,478	0,453	0,382	0,446	0,358	0,357	0,345
0,455	0,439	0,477	0,454	0,384	0,445	0,358	0,354	0,345
0,459	0,438	0,479	0,456	0,384	0,450	0,358	0,358	0,344
0,460	0,438	0,479	0,456	0,383	0,450	0,359	0,359	0,347
0,460	0,438	0,478	0,455	0,388	0,453	0,358	0,360	0,349
0,462	0,439	0,480	0,456	0,387	0,450	0,359	0,361	0,347
0,463	0,438	0,480	0,457	0,388	0,452	0,359	0,362	0,349
0,462	0,439	0,481	0,456	0,388	0,450	0,359	0,359	0,348
0,463	0,440	0,481	0,457	0,385	0,454	0,359	0,359	0,356
0,463	0,440	0,480	0,458	0,388	0,453	0,360	0,358	0,359
0,464	0,440	0,480	0,457	0,389	0,454	0,360	0,358	0,359
0,455	0,446	0,489	0,457	0,393	0,458	0,356	0,355	0,362
0,458	0,447	0,488	0,456	0,393	0,456	0,357	0,359	0,365
0,460	0,447	0,486	0,456	0,393	0,458	0,357	0,358	0,363
0,462	0,446	0,487	0,454	0,395	0,458	0,356	0,357	0,366
0,461	0,446	0,486	0,456	0,392	0,570	0,355	0,361	0,365
0,462	0,447	0,486	0,459	0,395	0,457	0,356	0,358	0,367
0,462	0,447	0,485	0,460	0,393	0,455	0,357	0,360	0,365
0,464	0,447	0,487	0,458	0,391	0,454	0,356	0,359	0,367
0,463	0,447	0,487	0,457	0,395	0,454	0,357	0,359	0,368
0,465	0,445	0,487	0,458	0,398	0,453	0,357	0,358	0,366
0,464	0,448	0,488	0,456	0,394	0,455	0,358	0,359	0,367
0,464	0,448	0,487	0,458	0,394	0,454	0,359	0,360	0,368

Los resultados del estudio ANOVA por SPSS se recogen a continuación:

Tabla 4.6. Tabla de resultados ANOVA para el Mg

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Abs. Mg						
LSD						
(I) Volumen	(J) Volumen	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	.017667 [*]	.001211	,000	.01525	.02008
	10	-.022542 [*]	.001211	,000	-.02496	-.02013
2	0	-.017667 [*]	.001211	,000	-.02008	-.01525
	10	-.040208 [*]	.001211	,000	-.04262	-.03779
10	0	.022542 [*]	.001211	,000	.02013	.02496
	2	.040208 [*]	.001211	,000	.03779	.04262

Tabla 4.7. Tabla de resultados ANOVA para el Ca

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Abs. Ca						
LSD						
(I) Volumen	(J) Volumen	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	.066667*	.004126	.000	.05844	.07490
	10	-.001208	.004126	.770	-.00944	.00702
2	0	-.066667*	.004126	.000	-.07490	-.05844
	10	-.067875*	.004126	.000	-.07611	-.05964
10	0	.001208	.004126	.770	-.00702	.00944
	2	.067875*	.004126	.000	.05964	.07611

Tabla 4.8. Tabla de resultados ANOVA para el Fe

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Abs. Fe						
LSD						
(I) Volumen	(J) Volumen	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	2	.001042	.001596	.516	-.00214	.00423
	10	.000875	.001596	.585	-.00231	.00406
2	0	-.001042	.001596	.516	-.00423	.00214
	10	-.000167	.001596	.917	-.00335	.00302
10	0	-.000875	.001596	.585	-.00406	.00231
	2	.000167	.001596	.917	-.00302	.00335

A la vista de los resultados de las tablas 4.6, 4.7 y 4.8, se puede deducir que la cantidad de HNO_3 añadida a las disoluciones de Mg y Ca aporta diferencias en la señal analítica ya que los niveles de significación son menores a 0,05. No obstante, en el caso del calcio solo influye el ácido nítrico cuando la concentración de éste es alta, ya que entre la disolución sin nítrico y la disolución con 2 mL de ácido no hay diferencias en la señal. Por otro lado se observa que el nivel de significación entre todas las disoluciones de hierro es mayor a 0,05 por lo que se acepta la hipótesis nula (H_0) y se puede concluir que no existen diferencias entre la señal analítica de las tres disoluciones.

Con todos los datos recopilados, se decidió utilizar el hierro como metal a determinar. Por un lado, la cantidad de nítrico en la disolución no influye en la señal analítica, evitando así errores de medida debido a la evaporación de disolvente en la digestión. Además es el metal que menos problemas da a la hora de realizar las medidas.

Una vez elegido el hierro como elemento a determinar se hicieron diferentes pruebas para elegir la muestra de pescado/marisco a analizar.

Se quiso comprobar si había alguna diferencia en la concentración entre una muestra de pescado fresco y una muestra del mismo pescado seco. Para ello se hizo un pequeño estudio comparando los resultados del análisis de una muestra de pescado fresco y pescado secado en estufa a 120 °C durante 2 horas.

Tabla 4.9. Resultados de las pruebas con pescado seco

Pescado	Concentración de hierro (mg/kg)
<i>Sardina fresca</i>	10,4 ± 1,0
<i>Sardina seca</i>	10,2 ± 0,6

A la vista de los resultados de la tabla 4.9 se puede deducir que la influencia del secado de la muestra es despreciable ya que no hay apenas diferencias de concentración.

También se realizaron análisis de varias muestras de pescado y marisco fresco para determinar qué muestra da mejores resultados de concentración. Estos resultados están recopilados en la tabla 4.10:

Tabla 4.10. Recopilación de resultados de Fe en distintos pescados y mariscos

Pescado	Concentración de hierro (mg/kg)
<i>Salmón</i>	3,8 ± 0,8
<i>Bacaladilla</i>	6,9 ± 0,9
<i>Caballa</i>	11,1 ± 1,0
<i>Sardina fresca</i>	10,4 ± 1,0
<i>Mejillón</i>	19,9 ± 1,0

A pesar de haber varias muestras que dan concentraciones aceptables, se eligió utilizar el mejillón como muestra definitiva ya que es el alimento con mayor concentración y por tanto el que menor cantidad de muestra requiere. Cabe destacar que el mejillón es una muestra muy heterogénea por lo que se deben triturar las muestras de mejillón con una batidora para conseguir una pasta perfectamente homogénea.

Con todos los resultados obtenidos de los estudios se ha optado por la determinación de hierro en mejillón para el desarrollo del método para la práctica de laboratorio.

6.3. Resultados y discusión

Una vez elegido el hierro como elemento a determinar y el mejillón como matriz se hicieron diferentes estudios para optimizar el método. Además de esto, también se hizo un estudio comparativo entre los dos métodos de digestión para poder evaluar cuál de los dos es más eficiente. Una vez optimizado el método, se realizó un guion y un informe de prácticas para que los alumnos puedan realizar una práctica de laboratorio.

Primero, se realizó un estudio de linealidad para determinar el límite superior de linealidad. Para ello se realizó una recta de calibrado utilizando 8 disoluciones patrón de hierro obteniendo los resultados mostrados en la tabla 4.11.

Tabla 4.11. Datos de concentración y absorbancia para análisis de linealidad

c_{Fe} (mg/L)	0	2,11	5,27	10,5	21,1	31,6	42,2	63,3
A (u.a.)	0	0,190	0,337	0,600	0,905	1,018	1,055	1,122

A la vista de los resultados observados a partir de la figura 4.3, se puede situar el límite superior de linealidad en 10,5 mg/L.

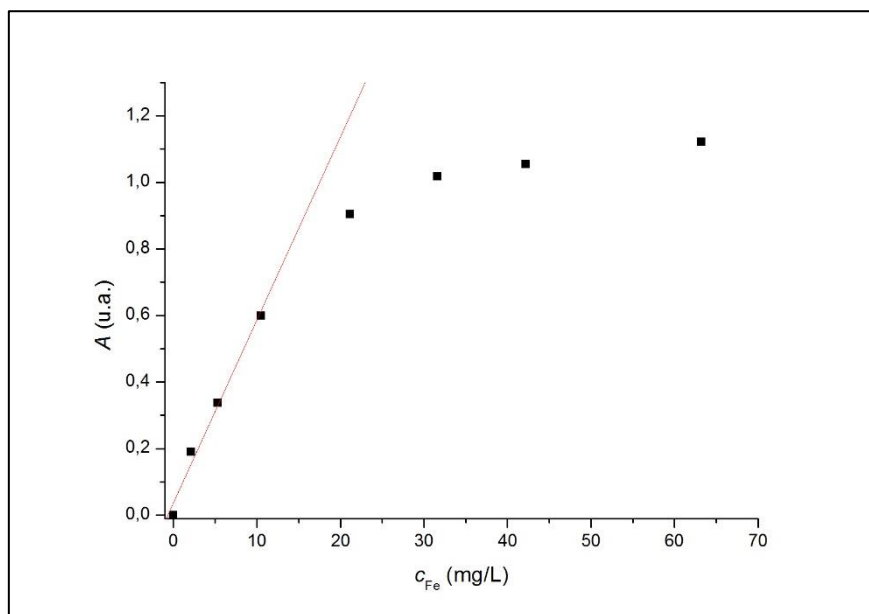


Fig. 4.3. Curva de comportamiento lineal del Fe

Otra de las pruebas que se hizo fue comprobar si hay efecto matriz. Este estudio se realizó la determinación de hierro para una misma muestra de mejillón utilizando patrón externo (8 réplicas) y adición estándar como métodos de calibración.

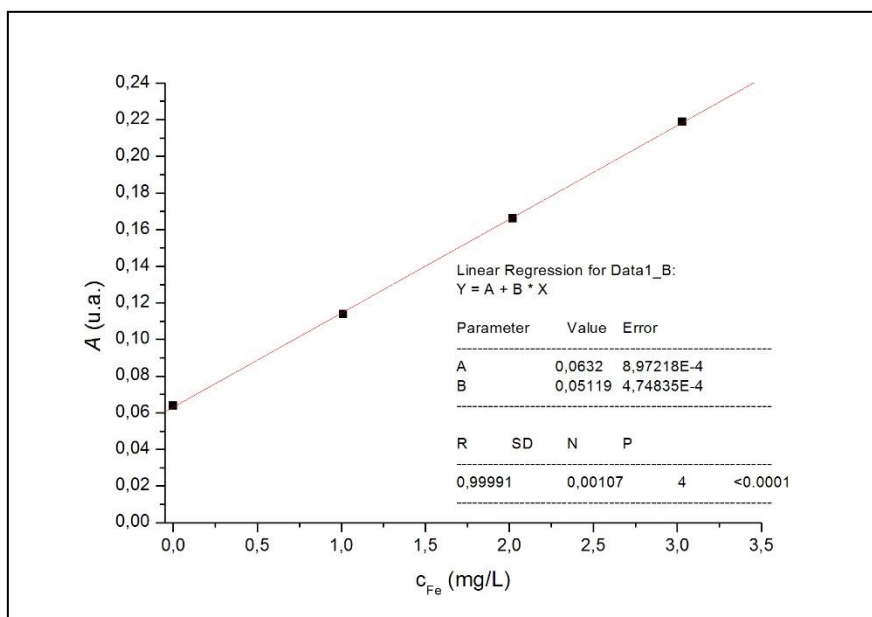


Fig. 4.4. Recta de calibrado utilizando adición estándar

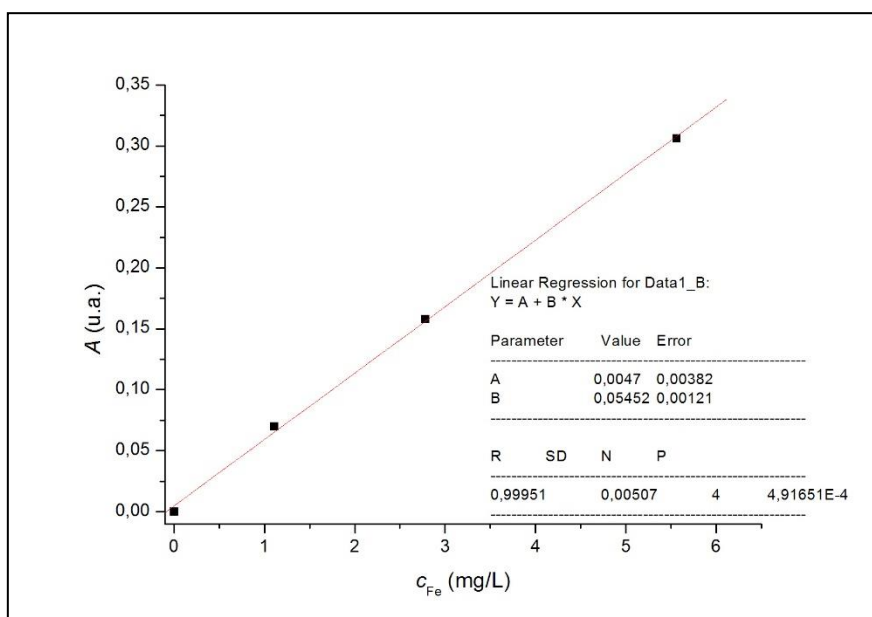


Fig. 4.5. Recta de calibrado utilizando patrón externo

A la vista de las figuras 4.4 y 4.5, se observa que las rectas de calibrado presentan buena linealidad ($r > 0,9995$) y las pendientes de ambos métodos de calibración no presentan grandes diferencias. Además de esto, los resultados de concentración ($c \pm 2s$) presentes en la tabla 4.12 son muy similares.

Tabla 4.12. Resultados de Fe en mejillón con adición estándar y patrón externo

Método calibración	Concentración de hierro (mg/kg)
Adición estándar	$12,44 \pm 0,07$
Patrón interno	$11,0 \pm 2,0$

Con estos resultados se optó por utilizar patrón externo ya que para las diferencias que presentas ambos métodos, usar este método facilita mucho el trabajo y no merece la pena utilizar adición estándar.

Para concluir el estudio, se compararon los dos métodos de digestión mediante un tratamiento estadístico. Para ello se realizaron 8 digestiones en sistema abierto y otras 8 mediante digestión asistida por microondas de otra partida de mejillón diferente a la utilizada en los estudios anteriores. Una vez digeridas las muestras se realizaron las correspondientes medidas por FAAS y se compararon los resultados mediante una prueba t-student para muestras independientes. En la tabla 4.13 se recogen los datos obtenidos por ambos métodos.

Tabla 4.13. Resultados de Fe en mejillón con los dos métodos de digestión

Concentración de Fe en mejillón (mg/kg)	
Dig. asistida por microondas (c_1)	Dig. en sistema abierto (c_2)
41,8	28,7
41,4	30,5
41,5	31,4
39,8	33,3
39,0	33,4
37,9	32,5
37,9	29,4
37,8	33,6

Aunque con la digestión en sistema abierto se obtuvieron disoluciones turbias y a simple vista se ve que los resultados de la digestión asistida por microondas presenta concentraciones mayores, se hizo una prueba t-student para dos muestras independientes de una sola cola con un nivel de confianza del 95% ($H_0: \bar{c}_1 = \bar{c}_2$, $H_1: \bar{c}_1 > \bar{c}_2$). Para ello se utilizó el programa SPSS para hacer los cálculos estadísticos correspondientes.

Tabla 4.14. Resultados de la prueba t-student en SPSS

Independent Samples Test						
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Concentración	Equal variances assumed	,085	,775	8,896	14	,000
	Equal variances not assumed			8,896	13,882	,000

Con los datos de la tabla 4.14 se puede considerar que las varianzas son homogéneas ya que el valor de significación de la prueba F de varianzas es mayor a 0,05 por lo que se acepta H_0 ($s_1 = s_2$). El nivel de significación unilateral (1 cola) correspondería a la mitad del nivel bilateral (2 colas) que aparece en la tabla. Suponiendo varianzas iguales el nivel de significación es menor de 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula, es decir, se concluye que la digestión asistida por microondas que da valores de concentración mayores ($\bar{c}_1 > \bar{c}_2$) que la digestión en sistema abierto.

Una vez comparados los dos métodos de digestión y optimizado el método de determinación de hierro en mejillón se procederá al diseño de una práctica de laboratorio que será impartida en cursos posteriores.

ELABORACIÓN DEL GUION E INFORME DE PRÁCTICAS

5. Elaboración del guion e informe de prácticas

Una vez desarrollado el método de determinación de hierro en mejillón y a la vista de los resultados obtenidos, se procedió a la elaboración tanto de un guion como un informe de prácticas. Este material docente se utilizará en las prácticas de laboratorio de la asignatura del Grado en Química de tercer curso Análisis Instrumental I.

En el guion se indican todos los procedimientos que el alumno debe realizar a lo largo de la práctica para realizarla correctamente, así como los materiales y reactivos a utilizar. También se incorporan las precauciones que deben tener para que se trabaje en todo momento con seguridad.

Posteriormente, los alumnos deberán rellenar el informe de prácticas correspondiente con los resultados obtenidos de la práctica. Esto se hace con el fin de que los profesores de la asignatura puedan evaluar correctamente a cada alumno.

En las páginas siguientes se mostrarán tanto el guion como el informe que se han desarrollado para esta práctica de determinación de hierro en mejillón.

IRON DETERMINATION IN MUSSEL BY FLAME-ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY. COMPARATION OF TWO DIFFERENT DIGESTION METHODS

1. Introduction

Iron is one of the most important elements in biological processes. The deficiency of Fe leads to anaemia, so it is important to introduce iron-rich food in our diet to prevent health problems. Some iron-rich foods are beef, clams, mussels, caned sardines, nuts... The objective of this practise is the iron determination in mussels.



2. Aims

- To do two different digestion techniques (open vessel digestion and microwave assisted digestion).
- To handle a flame-atomic absorption spectrometer.
- To compare the results of the two different digestion methods by statistical analysis.

3. Reagents and materials

- ✓ Iron(III) chloride
- ✓ 65 % (w/w) nitric acid
- ✓ Volumetric pipettes
- ✓ Volumetric flasks
- ✓ Beakers
- ✓ 250 mL Erlenmeyer flasks
- ✓ Watch glasses
- ✓ 55 mL Teflon vessels for microwave digestion
- ✓ Mussel sample

4. Methodology

a) Preparation of the calibration curve

First, make a Fe stock solution from FeCl₃. In 25 mL volumetric flasks, prepare five (4+blank) iron solutions between 0 and 3.5 mg Fe/L. Remember, 10 mL of HNO₃ 1:1 must be added to 25 mL iron solutions.

b) Sample preparation

▪ Sample homogenization

The mussel sample is very heterogeneous. Clean the mussels with distilled water, dry with paper towel and homogenize the sample using a blender.

- Microwave digestion

Introduce exactly about 3 g of homogenized mussel sample in a Teflon vessel and add 10 mL of HNO_3 65 % (w/w). Then, cover the vessel with the security cap and put the vessel protection. Next, introduce the vessels into the oven. The digestion program is the next one:

Power (W)	Ramp (min)	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Hold (min)	Cooling (min)
600	15:00	200	8:00	30:00



CAUTION!!! Open the Teflon vessels only if they are at room temperature. The vessel must be opened in the hood due to it gives off nitrous vapours. Remember to wear personal protective equipment (glasses, gloves, lab coat...).

Finally, transfer the sample to a 25 mL volumetric flask.

- Open vessel digestion

For the open vessel digestion, weigh exactly about 3 g of the homogenized mussel sample in a 100 mL Erlenmeyer flask. Add 10 ml of nitric acid 65 % (w/w) and cover the flask with a watch glass. Then, put the Erlenmeyer flask in a hot plate and start heating until boiling. Be careful, if the temperature is too high the solution can overflow. Hold boiling 15 minutes and move away the flask from the hot plate. The solution is cooled at room temperature. After cooling, filter the solution by gravity filtration and transfer to a 25 mL volumetric flask.

c) Spectrophotometric determination

Measure the absorbance of the calibration curve and the samples solutions in the flame-atomic absorption spectrometer. The work wavelength is 248.3 nm.

5. Calculations and results

- Obtain de calibration curve and calculate the iron concentration in the mussel samples graphical and mathematically. The concentration must be expressed as mg Fe/kg of mussel.
- Make statistical treatment to compare the two digestion methods for the same mussel sample and discuss the results.

WASTES: The sample and the calibration curve solutions contains nitric acid, deposit them in "acid and bases in aqueous solution". The iron stock solution must be deposited in "metals in aqueous solution".

Atomic and molar weights: $\text{Fe}=55.847 \text{ g mol}^{-1}$ $\text{FeCl}_3=162.21 \text{ g mol}^{-1}$

IRON DETERMINATION IN MUSSEL BY FLAME-ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY. COMPARISON OF TWO DIFFERENT DIGESTION METHODS

Name: No.:.....

Concentrated Fe solution: g of in mL $C_{conc.}$:mg Fe/L

Dilution: C_{dil} : mg Fe/L

▪ Calibration curve

Final V (mL)	Standard solution V (mL)	Fe concentration (mg/L)	Absorbance (248.3 nm)			$A_{248.3}$ (average)
25.0	0.00	0.00				
25.0						
25.0						
25.0						
25.0						

Calibration curve equation:

▪ Microwave digestion

Sample:g of mussel in 25 mL

$A_{248.3}$	Mathematically interpolated concentration	mg of Fe/kg of mussel
	\bar{c}	
	s	
	$\%S_r$	

$A_{248.3}$	Graphically interpolated concentration	mg of Fe/kg of mussel

▪ Open vessel digestion

Sample:g of mussel in 25 mL

$A_{248.3}$	Mathematically interpolated concentration	mg of Fe/kg of mussel
	\bar{c}	
	s	
	$\%S_r$	

$A_{248.3}$	Graphically interpolated concentration	mg of Fe/kg of mussel

▪ Final results

MATHEMATICALLY

Microwave digestion	Open vessel digestion

GRAPHICALLY

Microwave digestion	Open vessel digestion

▪ Statistical treatment

Collect other student's results, compare the two digestion methods by a statistical test and discuss the obtained results. Are there significant differences between the two methods?

REMEMBER!!!! Include the handmade graph with the calibration curve. Don't forget add the calculations of statistical treatment in another sheet with the conclusions of the study.

ELABORACIÓN DE MATERIAL DOCENTE PARA APLICAR EL AULA INVERTIDA

6. Elaboración de material docente para aplicar el Aula Invertida

6.1. Materiales

Como ya se ha dicho, uno de los objetivos del trabajo es la elaboración de material docente para aplicar el modelo del Aula Invertida. Uno de los medios de transmisión de información más característicos es el vídeo educativo. En este trabajo se elaboró un vídeo explicando la práctica de laboratorio diseñada que los alumnos tendrán que ver antes de llegar al laboratorio. Con esto se consigue dejar el tiempo de laboratorio únicamente para la realización de la práctica y rellenar el informe correspondiente.

Para grabar los vídeos se utilizó una cámara compacta Lumix TZ-40 FullHD con una óptica Leica y un trípode de fotografía (fig. 6.1). Con este material se grabaron todas las escenas que se realizaron en el laboratorio. La cámara no cuenta con un buen micrófono por lo que el audio se grabó aparte con un micrófono Woxter Mic Studio.



Fig. 6.1. Material de grabación utilizado para elaborar el vídeo educativo: cámara, trípode y micrófono.

Para el montaje y retoque del vídeo de alguna toma se utilizaron varios programas de ordenador (fig. 6.2). Se utilizó PowerPoint para realizar algunos gráficos y esquemas para la presentación. Para poder grabar y recortar el audio se utilizó un grabador/editor gratuito muy versátil llamado Audacity. Finalmente, para editar y montar el vídeo se utilizó un editor de vídeo de software libre bastante potente para ser gratuito conocido como OpenShot Video Editor. Este editor permite hacer títulos animados gracias a que puede trabajar conjuntamente con Blender para hacer animación en 3D.



Fig. 6.2. Programas informáticos empleados en la elaboración del vídeo

El vídeo terminado se subió a la plataforma de vídeos YouTube para poder compartirlo por la plataforma educativa EDpuzzle donde se incorporarán cuestiones en los momentos clave del vídeo para que los alumnos reflexionen sobre lo aprendido.

6.2. Resultados y discusión

Lo primero que se hizo fue elaborar un breve guion indicando las ideas fundamentales que se quieren plasmar en el vídeo. Una vez asentadas las ideas se grabaron las tomas necesarias en el laboratorio. Una vez grabadas todas las tomas del vídeo se revisaron para descartar las tomas desenfocadas y elegir únicamente las que plasmen más claramente las actividades a realizar.

A continuación se grabó el audio aparte en el ordenador utilizando el programa Audacity (fig. 6.3), con este programa se puede recortar el audio y editar algunos parámetros que se precisen.

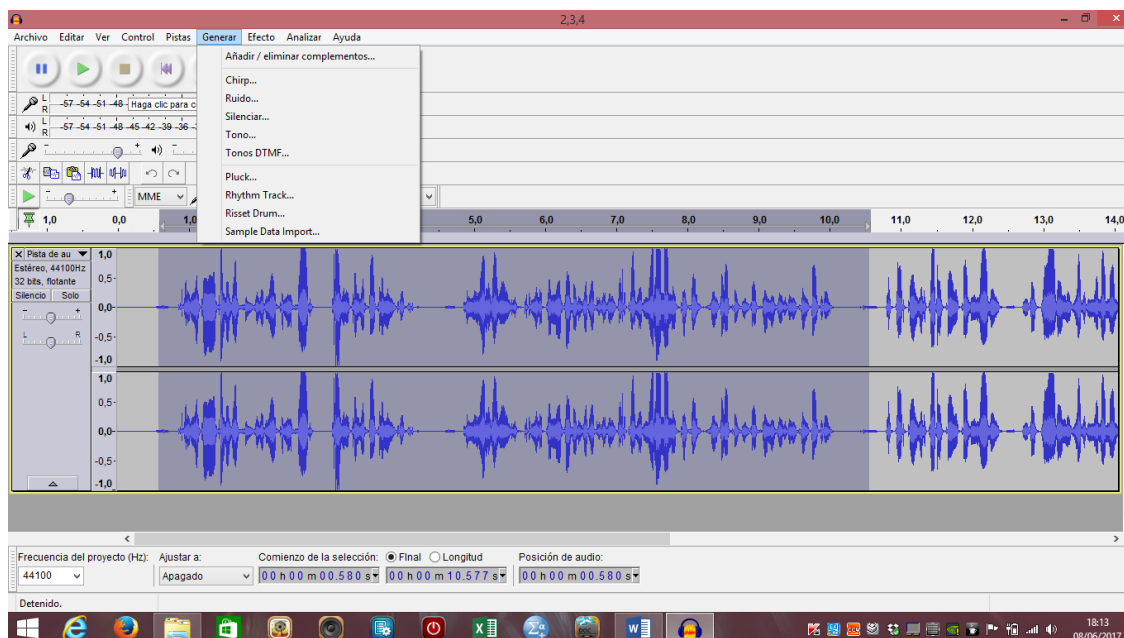


Fig. 6.3. Captura de uno de los momentos de grabación y edición de audio en Audacity

Una vez grabado el audio, se revisa la grabación y se realizan los recortes y modificaciones (volumen, tono...) necesarias. Estas grabaciones se añadieron posteriormente a las imágenes del vídeo con el editor de vídeo.

La primera parte del vídeo es una breve explicación teórica del método de calibración y de los distintos métodos de digestión. Al ser una explicación más teórica, en vez de grabar tomas en el laboratorio se optó por incorporar diapositivas en PowerPoint con animaciones para explicarlo de una manera más gráfica tal y como se ve en la figura 6.4.

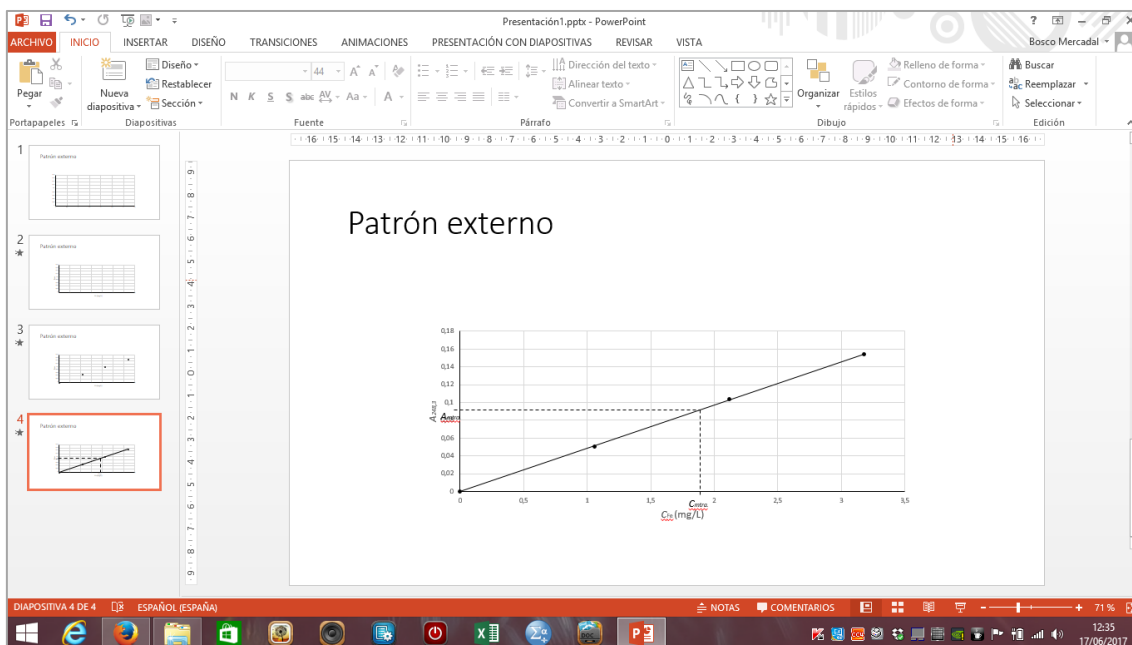


Fig. 6.4. Captura de la elaboración de una presentación de PowerPoint utilizada en el vídeo

Todas las tomas y los vídeos se editaron en el editor de video OpenShot Video Editor (fig. 6.5). Finalmente, se utilizará este mismo programa para juntar todo y obtener así el vídeo educativo que se compartirá a los alumnos.

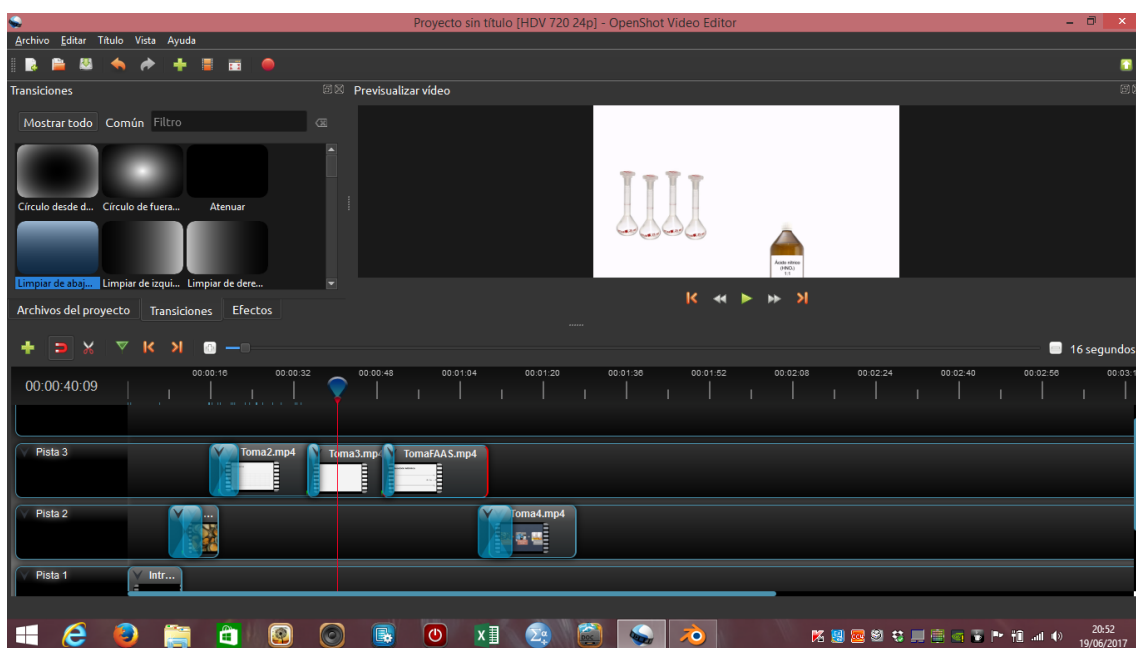


Fig. 6.5. Captura de uno de los momentos de edición de vídeo en OpenShot utilizando Blender como programa auxiliar

Una vez acabado y revisado el vídeo se subió a YouTube para poder compartirlo posteriormente por la plataforma educativa EDpuzzle. Esta plataforma permite introducir tres tipos de preguntas en los momentos clave del vídeo: preguntas de selección múltiple, cuestiones de desarrollar y anotaciones del profesor para recordar conceptos a los alumnos. Estas cuestiones son muy útiles para que los alumnos puedan reflexionar sobre las actividades que van a realizar en el laboratorio y así repasar los conocimientos aprendidos en la asignatura. Además EDpuzzle permite al profesor hacer un seguimiento del alumno ya que puede ver el porcentaje del vídeo que ha visualizado así como la cantidad de veces que se ha reproducido cada parte del vídeo y las respuestas que han dado a las cuestiones.

Finalmente se obtuvo un vídeo de una duración final de 3:25 minutos. Se intentó que el vídeo durase el menor tiempo posible para no aburrir al alumno con largas explicaciones y evitar perder su atención. El vídeo educativo realizado en este trabajo de fin de grado se puede encontrar en el siguiente enlace:

<https://www.youtube.com/watch?v=L2WM33Q3pr8>

Este vídeo será utilizado junto con el guion y el informe de prácticas, ya comentados en otro apartado, como material docente en la asignatura de tercer curso Análisis Instrumental I, para explicar una de las prácticas de laboratorio.

CONCLUSIONES

7. Conclusiones

A la vista de los resultados de este trabajo de fin de grado se pueden deducir las siguientes conclusiones:

- Se ha conseguido desarrollar un método de determinación de hierro en mejillón utilizando dos métodos de digestión diferentes.
- De los metales que se consideraron para determinar (Cu, Mg, Ca, Fe), se eligió el hierro ya que no presentaba tantos problemas como los otros y daba buenos resultados.
- La muestra de pescado/marisco elegida fue el mejillón al presentar altas concentraciones y por tanto requiere menor cantidad de muestra.
- Para el hierro, la cantidad de ácido nítrico añadida a las disoluciones patrón no afecta en la absorbancia medida.
- Mediante un estudio estadístico (prueba t-student) se ha podido deducir que la digestión asistida por microondas da mayores resultados de concentración que la digestión en sistema abierto.
- Los resultados que dan los métodos de calibración de patrón externo y de adición estándar son muy similares tanto en pendiente de la recta como en concentración de la muestra. Por ello se optó por utilizar patrón externo como método de calibración al ser más cómodo a la hora de realizar las prácticas.
- Con todos los resultados se pudo diseñar una práctica de laboratorio para los alumnos de 3º del Grado en Química elaborando tanto el guion como el informe de prácticas.
- Se aplicó la metodología pedagógica del aula invertida o Flipped Classroom realizando un breve vídeo educativo explicando la práctica de laboratorio diseñada.
- El método del aula invertida y los vídeos educativos son una herramienta muy interesante a la hora de ofrecer una enseñanza personalizada a los alumnos ya que cada alumno puede aprender al ritmo más conveniente a sus posibilidades.

BIBLIOGRAFÍA

8. Bibliografía

Bugallo R.A., Río S. y Fernández E. (2007). Comparison of slurry sampling and microwave-assisted digestion for calcium, magnesium, iron, copper and zinc determination in fish tissue samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 72, 60-65.

Amo D. y Santiago R. (2017). *Learning Analytics. La narración del aprendizaje a través de los datos*. Barcelona: Editorial UOC.

Bergmann J. y Sams A. (2014). *Dale la vuelta a tu clase. Lleva tu clase a cada estudiante en cualquier lugar*. Madrid: Ediciones SM.

Cristache C., Comero S., Locoro G, Fissiaux I., Ruiz A.A., Tóth G. y Gawlik B.M. (2014). *Comparative study on open system digestion vs. microwave-assisted digestion methods for trace element analysis in agricultural soils*. Luxemburgo: JRC Technical Reports.

Fakayode S.O., King A.G., Yakubu M., Mohammed A.K. y Pollard D.A. (2012). Determination of Fe content of some food items by Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS): A guided-inquiry learning experience in instrumental analysis laboratory. *Journal of Chemical Education*, 89, 109-113.

Gamificación S.L. (2013) ¿Qué es la Gamificación? Recuperado el 5 de junio de 2017, de <http://www.gamificacion.com/que-es-la-gamificacion>

García J. y Serrano E. (2015). *Chemistry Education. Best Practices, Opportunities and Trends*. Weinheim: Wiley-VCH.

Hernández L., González C. (2002). *Introducción al análisis instrumental*. Barcelona: Ariel.

Kristian K.E., Friedbauer S., Kabashi D., Ferencz K. M, Barajas J.C. y O'Brien K. (2014). A simplified digestion protocol for the analysis of Hg in fish by cold vapor Atomic Absorption Spectroscopy. *Journal of Chemical Education*, 92, 698-702.

Makedonski L., Peycheva K. y Stancheva M. (2017). Determination of heavy metals in selected black sea fish species. *Food Control*, 72, 313-318.

Olmedo P., Hernández A.F., Pla A., Fermia P., Navas-Acien A. y Gil F. (2013). Determination of essential elements (copper, manganese, selenium and zinc) in fish and shellfish samples. Risk and assessment and mercury-selenium balance. *Food and Chemical Toxicology*, 62, 299-307.

Santiago R. (2016). Visión-What is the Flipped Classroom. Recuperado el 5 de junio de 2017, de <http://www.theflippedclassroom.es/what-is-innovacion-educativa/>

Silva T.S., Conte C., Santos J.P., Simas E.S., Freitas S.C., Raices R.L.S. y Quintero S.L. (2017). Spectrometric method for determination of inorganic contaminants (arsenic, cadmium, lead and mercury) in Smooth weakfish fish. *LWT-Food Science and Technology*, 76, 87-94.

Skoog D.A., Holler F.J. y Crouch S.R. (2008). *Principios de análisis instrumental*. Santa Fe: Cengage Learning.